**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 : A23K 1/00, C12N 9/98 — A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/42837

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. November 1997 (20.11.97)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP97/02306

(22) Internationales Anmeldedatum: 6. Mai 1997 (06.05.97)

(30) Prioritätsdaten:
196 19 219.6 13. Mai 1996 (13.05.96) DE

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: MESCHONAT, Beate [DE/DE]; Wendehagen 19, D-30419 Hannover (DE). HERMANN, Hubert [DE/DE]; Wanneweg 25, D-38162 Cremlingen (DE). SPANNAGEL, Rolf [DE/DE]; Zum Hahnenkamp 20, D-32629 Husum (DE). SANDER, Vera [DE/DE]; Mühlenweg 11, D-30826 Garbsen (DE). KONIECZNY-JANDA, Gerhard [DE/DE]; Schöneberger Strasse 23, D-30982 Pattensen (DE). SOMMER, Mario [DE/DE]; Am Pfaffenroth 14, D-61389 Schmitten (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO Patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht**
*Mit internationalem Recherchenbericht.*
*Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.*

(54) Title: ENZYME PRE-GRANULES FOR GRANULAR FODDER

(54) Bezeichnung: ENZYM-VORGRANULAT FÜR TIERFUTTERMITTEL-GRANULATE

(57) Abstract

The invention relates to the production of enzyme pre-granules with stable activity which can be incorporated in particles of a granular fodder. The invention also relates to pre-granules with stable activity which are obtained according to said production process and can be made into granular fodder.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines aktivitätsstabilen Enzym-Vorgranulates, das dem Zweck dient, in Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates eingearbeitet zu werden. Weiterhin betrifft die Erfindung die nach den Herstellverfahren erhaltenen aktivitätsstabilen Vorgranulate zur Einarbeitung in Tierfuttermittel-Granulate.

*LEDIGLICH ZUR INFORMATION*

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AL | Albanien | ES | Spanien | LS | Lesotho | SI | Slowenien |
| AM | Armenien | FI | Finnland | LT | Litauen | SK | Slowakei |
| AT | Österreich | FR | Frankreich | LU | Luxemburg | SN | Senegal |
| AU | Australien | GA | Gabun | LV | Lettland | SZ | Swasiland |
| AZ | Aserbaidschan | GB | Vereinigtes Königreich | MC | Monaco | TD | Tschad |
| BA | Bosnien-Herzegowina | GE | Georgien | MD | Republik Moldau | TG | Togo |
| BB | Barbados | GH | Ghana | MG | Madagaskar | TJ | Tadschikistan |
| BE | Belgien | GN | Guinea | MK | Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien | TM | Turkmenistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | | | TR | Türkei |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | ML | Mali | TT | Trinidad und Tobago |
| BJ | Benin | IE | Irland | MN | Mongolei | UA | Ukraine |
| BR | Brasilien | IL | Israel | MR | Mauretanien | UG | Uganda |
| BY | Belarus | IS | Island | MW | Malawi | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| CA | Kanada | IT | Italien | MX | Mexiko | | |
| CF | Zentralafrikanische Republik | JP | Japan | NE | Niger | UZ | Usbekistan |
| CG | Kongo | KE | Kenia | NL | Niederlande | VN | Vietnam |
| CH | Schweiz | KG | Kirgisistan | NO | Norwegen | YU | Jugoslawien |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | NZ | Neuseeland | ZW | Zimbabwe |
| CM | Kamerun | | | PL | Polen | | |
| CN | China | KR | Republik Korea | PT | Portugal | | |
| CU | Kuba | KZ | Kasachstan | RO | Rumänien | | |
| CZ | Tschechische Republik | LC | St. Lucia | RU | Russische Föderation | | |
| DE | Deutschland | LI | Liechtenstein | SD | Sudan | | |
| DK | Dänemark | LK | Sri Lanka | SE | Schweden | | |
| EE | Estland | LR | Liberia | SG | Singapur | | |

Beschreibung

# Enzym-Vorgranulat für Tierfuttermittel-Granulate

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines aktivitätsstabilen Enzym-Vorgranulates, das dem Zweck dient, in Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates eingearbeitet zu werden. Weiterhin betrifft die Erfindung die nach den Herstellverfahren erhaltenen aktivitätsstabilen Vorgranulate zur Einarbeitung in Tierfuttermittel-Granulate.

Der Einsatz von Enzymen in Tierfuttermitteln ermöglicht eine bessere Verwertbarkeit der im Tierfutter enthaltenen Nährstoffe, da durch den Zusatz von Enzymen die Verwertung von nicht vollständig oder schwer verdaulichen Bestandteilen für das Tier erleichtert wird. Die Enzym-Zugabe zum Tierfuttermittel erweist sich hierbei als ein wirkungsvolles Mittel, um Futtermittel in unkonventioneller und preiswerter Zubereitung zu entwickeln, die eine optimale Ausnutzung der im Futtermittel enthaltenen Nährstoffe gewährleisten. Damit wird es möglich, preiswerte Rohmaterialien wie Getreide, Bohnen oder andere Samen in optimaler Weise für die Herstellung von qualitativ hochwertigen Futtermittelkomponenten, die insbesondere auch für Jungtiere geeignet sind, zu verwenden. Für die Anwendung von Enzymen in Tierfuttermitteln steht eine umfangreiche Anzahl von Enzymen zur Verfügung, die spezielle Enzymaktivitäten zum Abbau von speziellen Futtermittelbestandteilen wie z.B. Glukane, Stärke, Proteine, pektinähnliche Polysaccharide, Phytinsäure,

Galactomannane, Galactoarabane, Polygalacturone, Raffinose, Stachyose, Hemicellulose, Cellulose, Pentosane und andere Nährbestandteile aufweisen. Tierfuttermittel liegen häufig als Granulate, d.h. als gröbere oder körnige Haufwerke vor; der Tierfuttermittel-Fachmann spricht dann oft von "Futtermittel-Pellets", auch wenn die Form der Granulat-Teilchen nicht im eigentlichen Sinne des Wortes "Pellet" (kugelförmiges Teilchen) ausgerundet ist. Die Enzyme können hierbei dem Futtermittel, einer Vormischung desselben oder auch einem Vermischungsbestandteil zugemischt oder aber in Granulate dieser Bestandteile eingearbeitet werden. Granulierte Enzym-Produkte können sehr leicht mit den Futtermittelkomponenten vermischt werden, soweit diese Enzym-Granulate auf gewöhnlichen Futtermittelkomponenten basieren, wie z.B. Weizen oder Sojaflocken. Im Stand der Technik sind auch Verfahren bekannt, die gelöste Enzyme auf Futtermittelteilchen in einem Fließbett, in einem bewegten oder gerührten Bett aufsprühen und nachfolgend gegebenenfalls trocknen. Nachteilig ist hierbei, daß oftmals eine unerwünschte Verkeimung des Futtermittels beobachtet wird. Weiterhin kann es erwünscht sein, die Enzyme direkt in die Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates einzuarbeiten, um eine möglichst intensive und homogene Vermischung des Enzyms in den Teilchen des Tierfuttermittel-Granulates selbst zu erzielen. Bei der Herstellung eines solchen Futtermittel-Granulates werden daher die gewünschten Bestandteile des Tierfuttermittels mit einer Enzymzubereitung gemischt, die Mischung nachfolgend durch Bedüsen mit Dampf konditioniert und anschließend daraus über Extrusion Strangschnittlinge erzeugt. Bei der Herstellung solcher Tierfuttermittel-Granulate werden die zugesetzten Enzyme jedoch einer hohen Temperaturbeanspruchung und einer hohen Druckbeanspruchung und Reibungs- und Scherkräften ausgesetzt. Dadurch wird die ursprüngliche Enzymaktivität oftmals nicht nur sehr beeinträchtigt, sondern geht oftmals sogar vollständig verloren.

Es bestand daher die Aufgabe, eine geeignete Verfahrensweise zur Formulierung von Futtermittelenzymen bereitzustellen,

um die vorstehenden Nachteile zu beheben und um es zu ermöglichen, die Enzyme ohne wesentliche Aktivitätsverluste in die Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates homogen einzuarbeiten.

Die Aufgabe wird gelöst durch das im Anspruch 1 angegebene Verfahren sowie durch die nach diesen Verfahren hergestellten aktivitätsstabilen Enzym-Vorgranulte gemäß Anspruch 16 sowie die im Anspruch 18 angegebene Verwendung. Zweckmäßige Ausgestaltungen des erfindungsgemäßen Verfahrens sind in den Unteransprüchen 2 bis 15 und im Hinblick auf das erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulat im Unteranspruch 17 wiedergegeben.

Demgemäß wird durch die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines aktivitätsstabilen Enzym-Vorgranulates bereitgestellt, welches zur Einarbeitung in die Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates dient, wobei sich das erfindungsgemäße Verfahren dadurch auszeichnet, daß man zunächst eine Feuchtgranulat herstellt, indem man

0,01 bis 20 Gew.-Teile Enzym oder Enzymgemisch (berechnet als Trockensubstanzgehalt des eingesetzten Enzympräparates),
80 bis 99,99 Gew.-Teile (inklusive Feuchtegehalt) einer organischen Mehltype mit einem Ausmahlungsgrad von 30 % bis 100 %,
wobei die Mehltype durch Ausmahlen einer, gegebenenfalls zuvor gewaschenen und/oder gereinigten, mit trockenem Heißdampf behandelten Mehlquelle gewonnen wurde,
und wobei sich die Gew.-Teile des Enzyms oder Enzymgemisches und der Mehltype auf 100 Gew.-Teile summieren,

gewünschtenfalls bis zu insgesamt 20 Gew.-Teile Granulierhilfsstoffe (berechnet als wasserfreie Granulierhilfsstoffe),

unter Verwendung einer berechneten Menge Wasser, die zur Einstellung eines Feuchtegehaltes im Feuchtgranulat von 20 bis 50 Gew.-% (bezogen auf die Summe der Bestandteile des Feuchtgranulates als 100 Gew.-%) ausreicht,

in einem Schnellmischer durch intensives Mischen zu einem klebefreien Feuchtgranulat mit gewünschtem Korngrößenbereich aufbaut,

man das derart erhaltene Feuchtgranulat trocknet und nachfolgend gewünschtenfalls noch durch Siebung von Unter- und/oder Überkorn befreit. Der Begriff "klebefrei" bedeutet hierbei, daß das Feuchtgranulat nicht mehr an den Mischeinrichtungen oder der Mischerwand anhaftet.

In einer zweckmäßigen Ausgestaltung der Erfindung zeichnet sich das vorstehende Verfahren dadurch aus, daß man zur Herstellung des Feuchtgranulates

0,01 bis 10 Gew.-Teile Enzym oder Enzymgemisch, vorzugsweise 2 bis 7 Gew.-Teile Enzym oder Enzymgemisch,
90 bis 99,99 Gew.-Teile Mehltype, vorzugsweise 93 bis 98 Gew.-Teile Mehltype,

gewünschtenfalls bis zu insgesamt 15 Gew.-Teile, vorzugsweise 0,5 bis 5 Gew.-Teile, Granulierhilfsstoffe,

und eine berechnete Menge Wasser einsetzt, die zur Einstellung eines Feuchtegehaltes von 25 bis 40 Gew.-%, vorzugsweise von 25 bis 35 Gew.-%, im Feuchtgranulat ausreicht.

Gemäß der Erfindung werden organische Mehle (also Mehle aus organischen Grundstoffen) bestimmten Types eingesetzt. Die Bezeichnung "organisches Mehl" umfaßt hierbei im Rahmen der Erfindung alle mehr oder weniger zerkleinerten, pulverförmigen bis feinkörnigen Produkte, die durch Zerkleinern (Mahlen) aus festen organischen Materialien natürlichen Ursprungs (Mehlquelle) gewonnen wurden. Zweckmäßigerweise werden im erfindungsgemäßen Verfahren organische Mehle eingesetzt, die man durch Mahlen von Getreidekörnern, Leguminosenfrüchten und/oder Früchten der Familie Malvaceae (z.B. Baumwollsamen) erhält. Die vorzugsweise im Rahmen der Erfindung als Mehlquelle dienenden

Getreide sind insbesondere Weizen oder Roggen, aber auch Gerste, Hafer, Reis und Mais sowie Sorghum und andere Hirse-Arten können eingesetzt werden. Obwohl Buchweizen an sich nicht zu den Getreidearten gehört (Knöterichgewächs), können dessen bucheckerähnliche Mehlfrüchte ebenfalls im Rahmen der Erfindung als Mehlquelle eingesetzt werden; dies gilt insbesondere im Hinblick für Tierfuttermittel-Granulate für Geflügel, jedoch ist bei der Herstellung von Tierfuttermittel-Granulaten für Weidevieh wegen des Gehaltes an photosensibilisierendem Fagopyrin gegebenenfalls Vorsicht geboten, soweit eine Verfütterung an überwiegend weiß behaartes Vieh beabsichtigt ist. In einer anderen bevorzugten Variante der Erfindung dienen Leguminosenfrüchte als Mehlquelle. Unter Leguminosen werden hier die zu den Fruchtgemüsen gehörenden, pflanzlichen Nahrungsmittel (Hülsenfrüchte) verstanden. Als Mehlquelle im Rahmen der Erfindung kommen daher die Früchte der Leguminosen-Arten wie: Pisum (Erbsen), Cajamus (Straucherbse), Cicer (Kichererbse); Lens (Linsen); Phaseolus (Bohnen), Vigna (Kuhbohnen), Dolchius (Helmbohnen), Cassavalia (Schwertbohnen), Vicia (Pferdebohnen oder Wicken); Peluschken; Arachis (Erdnüsse); Lupinen; Luzerne; Sojabohnen sowie Limabohnen und ggf. andere Hülsenfrüchte und auch Malvaceae-Früchte (z.B. der Gattung Gossipium, Baumwolle) in Betracht. Bevorzugt sind Sojabohnen.

Von ölhaltigen Früchten der vorstehenden Arten können sowohl entölte, teilentölte als auch ölhaltige Früchte zur Gewinnung des erfindungsgemäß verwendeten Mehls eingesetzt werden; bevorzugt sind hierfür teilentölte Früchte, insbesondere teilentölte Leguminosen-Früchte, z.B. teilentölte Sojabohnen.

Die im Rahmen der Erfindung einsetzbaren Mehle sind je nach den angewandten Mahlverfahren und dem dabei jeweils erzielten Ausmahlungsgrad feine Pulver von gelblich weißer bis grau-dunkler Farbe (helle bzw. dunkle Mehle) oder gegebenenfalls noch mehr oder weniger körnige (Schrot, Grieß, Feingrieß) oder weiß-gelblichbraun-melierte Erzeugnisse. Die erfindungs-

gemäß eingesetzten organischen Mehltypen weisen gewöhnlich einen Feuchtegehalt bis zu etwa 15 Gew.-% (z.B. einen Feuchtegehalt von 7 bis 15 Gew.-%) auf, der bei der Berechnung des prozentualen Feuchtegehaltes des erfindungsgemäß im Schnellmischer hergestellten Feuchtgranulates zu berücksichtigen ist. Üblicherweise werden in der Erfindung solche Getreidemehle eingesetzt, die einen Feuchtegehalt von etwa 10 bis 15 Gew.-%, insbesondere 13 bis 15 Gew.-% aufweisen; die Mehle aus Leguminosenfrüchten bzw. Früchten der Familie Malvaceae weisen üblicherweise einen Feuchtegehalt von etwa 9 (+/- 2) Gew.-% auf.

Weitere wichtigte Kriterien zur Charakterisierung des erfindungsmäßig eingesetzten Mehltyps sind der Ausmahlungsgrad und die sogenannte Mehltype; diese Kriterien korrelieren derart miteinander, daß mit zunehmendem Ausmahlungsgrad auch die Kennzahl der Mehltype zunimmt (d.h. des Zerkleinerungsgrades bzw. der Feinheit des Mehls). Der Ausmahlungsgrad entspricht der Gewichtsmenge des gewonnenen Mehls bezogen auf 100 Gewichtsteile des eingesetzten Mahlgutes (im Rahmen der Erfindung also des eingesetztes Getreides bzw. der Leguminosenfrüchte); er ist also eine prozentuale Mehlausbeute. Beim Mahlen des Mehls fällt in der Hauptsache zunächst reines, feinstes Mehl, z.B. aus dem Inneren des Getreidekorns, an und beim weiteren Vermahlen, also z.B. mit steigendem Ausmahlungsgrad, nimmt der Anteil an Rohfaser- und Schalengehalt im Mehl zu; der Stärkeanteil wird dabei geringer. Der Ausmahlungsgrad spiegelt sich daher auch in der sogenannten "Mehltype" wider, die als Zahlenangabe zur Klassifizierung von Mehlen - insbesondere von Getreidemehlen - verwendet wird und die auf dem Aschegehalt des Mehles beruht (sogenannte Ascheskala). Die Mehltype bzw. die Typenzahl gibt hierbei die Menge Asche (Mineralstoffe) in mg an, die beim Verbrennen von 100 g Mehltrockensubstanz zurück bleibt. Am Beispiel von Getreidemehlen kann die Typzahl wie folgt verdeutlicht werden: Je höher die Typzahl, desto dunkler ist das Mehl und desto höher ist der Ausmahlungsgrad, da der Kern des Getreidekorns in etwa nur 0,4 Gew.-%, die Schale dagegen etwa rund 5 Gew.-% Asche enthält. Ein Weizenmehl der Type 405 ent-

hält so z.B. im Durchschnitt 0,405 Gew.-% Asche. Bei niederem Ausmahlungsgrad bestehen die Getreidemehle dagegen überwiegend aus dem zerkleinerten Mehlkörper, d.h. dem Stärkebestandteil der Getreidekörner; bei höherem Ausmahlungsgrad enthalten die Getreidemehle auch die zerkleinerte, eiweißhaltige Aleuronschicht der Getreidekörner, bei Schrot auch die Bestandteile des eiweiß- und fetthaltigen Keimlings sowie der rohfaser- und aschehaltigen Samenschalen.

Der Ausmahlungsgrad des erfindungsgemäß eingesetzten Mehls beträgt 30 % bis 100 %. Der Ausmahlungsgrad 30 % entspricht einem feinsten Mehl, der Ausmahlungsgrad 100 % einem Vollkornmehl. In zweckmäßigen Varianten des erfindungsgemäßen Verfahren zeichnet sich dieses dadurch aus, daß der Ausmahlungsgrad der Mehltype 50 % bis 100 %, vorzugsweise 70 % bis 100 % beträgt.

Das im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte Mehl zeichnet sich dadurch aus, daß es aus einer Mehlquelle gewonnen wurde, die vor dem Vermahlen einer Behandlung mit trockenem Heißdampf mit einer Temperatur von insbesondere 100 bis etwa 110 °C unter annähernd Normaldruck bis geringem Überdruck (z.B. 0,8 bis 1,2 bar Überdruck) und einer Behandlungsdauer (Verweildauer in der nachfolgend beschriebenen Heißdampfbehandlungsvorrichtung) von bis zu etwa 1 Stunde unterworfen wurde. Trockener Heißdampf ist ein überhitzter und ungesättigter Wasserdampf, der in konventioneller Weise durch Überhitzung und Trennung von eventuellem Wasserkondensat oder durch Entspannen von Dampf von hohem Druck erzeugt werden kann. Die Heißdampfbehandlung der Mehlquelle kann z.B unter Verwendung eines sich nach unten verbreiternden, konischen Bunkers erfolgen, der mit einer oder mehreren Ringdüsen bzw. Dampflanzen für die Einleitung des trockenen Heißdampfes ausgestattet ist. Der Bunker kann im kontinuierlichen Betrieb mit der Mehlquelle, z.B. über Förderschnecken beschichtet und über beheizte Förderschnecken entleert werden. Die Heißdampf-behandelte Mehlquelle wird nachfolgend, z.B. in einem nachgeschalteten Fließbett-Trockner, auf einen konstanten Wassergehalt von höchstens 15 Gew.-% konditio-

niert und in einem weiteren Fließbett-Trockner für die nachfolgende Mahlung abgekühlt. Die behandelte, abgekühlte Mehlquelle wird danach kontinuierlich einer Vermahlmaschine zugeführt und zu einer Korngrößenverteilung mit Hauptanteil der Korngrößen im Bereich von 500 bis 50 µm ausgemahlen; vorzugsweise überschreitet der Anteil der Teilchen mit Korngrößen von kleiner 50 µm im ausgemahlenen Mehl 35 Gew.-% nicht und der Anteil von Teilchen mit Korngrößen von 300 bis 500 µm überschreitet darin 10 Gew.-% nicht. Bei einer zweckmäßigen Korngrößenverteilung beträgt der Anteil von Teilchen $\geq$ 300 µm höchstens 5 Gew.-%, von Teilchen im Bereich 300 µm bis 50 µm 65 bis 80 Gew.-% und von Teilchen unter 50 µm höchstens 30 Gew.-%.

Das Mischen und Granulieren der Bestandteile kann im erfindungsgemäßen Verfahren in einem satzweise arbeitenden Schnellmischer, z.B. Typ Pflugscharmischer, oder in einem kontinuierlich arbeitenden Schnellmischer, z.B. des Typs Schugi Flexomix (Fabrikat der Firma Schugi Process Engineers in Lelystadt/NL), erfolgen. Hierbei wird ein klebfreies Feuchtgranulat erhalten, indem man Wasser, ggf. über eine Enzymlösung oder mit einem eventuell zugesetzten Granulierhilfsmittel, kontinuierlich in Abhängigkeit der Zufuhr der festen Hauptbestandteile so zudosiert, daß der Feuchtegehalt im Feuchtgranulat (also vor dem Trocknen) am Auslauf des Mischers im allgemeinen 20 bis 50 Gew.-%, vorzugsweise 25 bis 40 Gew.-% und insbesondere 25 bis 35 Gew.-%, beträgt. Im erfindungsgemäßen Verfahren wird ein Feuchtgranulat mit einem Korngrößenbereich von 50 bis 800 µm, vorzugsweise 100 bis 800 µm, insbesondere von 100 bis 500 µm, aufgebaut. Die Mischzeit im Schnellmischer, bzw. bei kontinuierlicher Arbeitsweise die mittlere Verweildauer, beträgt beim erfindungsgemäßen Verfahren in der Regel bis zu maximal 15 Minuten; der Fachmann kann hierbei die Mischzeit bzw. Verweildauer an die erwünschten Eigenschaften des Feuchtgranulates (z.B. Klebfreiheit, Korngrößen) bzw. den jeweiligen Mischer anpassen. Als zweckmäßige Misch- bzw. Verweilzeiten bei satzweiser Granulation haben sich Zeiträume von etwa 2 Minuten bis 10 Minuten, insbesondere 3 bis 8 Minuten als ausreichend erwie-

sen. Bei kontinuierlicher Arbeitsweise sind auch wesentlich kürzere mittlere Verweilzeiten im Mischer ausreichend; so genügt bei kontinuierlicher Arbeitsweise im Schnellmischer des Typs Schugi Flexomix die von der Apparategröße und vom Mengenstrom abhängige mittlere Verweildauer nur im Bereich einiger Sekunden, z.B. bis 30 Sekunden, insbesondere 1 bis 10 Sekunden. Im Anschluß an die Granulierung wird das Feuchtgranulat einer konventionellen, enzymschonenden Trocknung, z.B. in einem Fließbett-Trockner, unterworfen und zu einem Granulat mit einem gewünschten Feuchtegehalt, insbesondere einem Feuchtgehalt von 3 bis 12 Gew.-%, vorzugsweise 7 bis 9 Gew.-% getrocknet. Nach dem Trocknen kann das Enzym-Vorgranulat noch in an sich üblicher Weise mit einem Lack oder einer Beschichtung überzogen werden. Die Beschichtung bzw. der Lack kann ein weiteres Enzym enthalten oder aber zur Färbung des Granulates dienen, bzw. auch eine Retardierung der Freisetzung des Enzyms oder Enzymgemisches, z.B. auch pH-abhängig gesteuerte Freisetzung in unterschiedlichen Magen-Darm-Bereichen, bewirken. Der Lack bzw. die Beschichtung kann hierbei sowohl kontinuierlich als auch satzweise auf das Enzym-Vorgranulat aufgebracht werden.

Im erfindungsgemäßen Verfahren können an sich alle Enzyme eingesetzt werden, die auf die Verwertbarkeit bzw. Verdaubarkeit von Nährbestandteilen in Tierfuttermitteln einen günstigen Einfluß ausüben. Das Enzym kann hierbei ein isoliertes, reines Enzym (d.h. ohne Nebenaktivitäten) oder ein Gemisch von Enzymen sein. Ein Enzymgemisch kann aus reinen Enzymen ohne Nebenaktivitäten zusammengestellt werden oder aber in einfacher Weise gleich in Form eines prozeßbedingt bei der Enzymgewinnung aus Mikroorganismen anfallenden Enzymgemisches erhalten werden; solche prozeßbedingt in Abhängigkeit vom Mikroorganismus anfallenden Enzymgemische umfassen in der Regel neben einem Hauptenzym verschiedene Begleitenzyme (sog. Nebenaktivitäten), die in der Regel eine günstige synergistische Nebenwirkung entfalten. Das Enzym oder Enzymgemisch kann somit allgemein eine Hydrolase, vorzugsweise aus der Gruppe der Carbohydrasen, Proteasen, Lipasen und Esterasen, oder eine Oxinitrilase, Tannase,

Chitinase, Keratinase, Oxidase oder ein Gemisch dieser Enzyme sein. Die Carbohydrasen für das erfindungsgemäße Verfahren sind z. B. ausgewählt aus Beta-Glucanasen, Cellulasen, Amylasen, Pentosanasen (z.B. Endopentosanasen), Pectinasen, Xylanasen. Im Rahmen der Erfindung können auch andere Futtermittelenzyme, z.B. Arabanasen, Hemicellulasen, Galactomannasen, Polygalacturonasen, Phytasen, Glucoamylasen, β-Galactosidasen, Pullulanasen, Driselase® und andere wie Lysozym oder Muramidasen eingesetzt werden. Werden Oxidasen eingesetzt, so können diese Glucoseoxidasen oder Peroxidasen sein. Der Anteil (die Menge) des eingebrachten Enzyms hängt hierbei von der individuellen, spezifischen Enzymaktivität und der gewünschten Aktivität im fertigen Enzym-Vorgranulat ab. Beispielsweise besitzt Pentosanase in der Regel eine hohe spezifische Aktivität und kann schon in Mengen von 0,01 bis 0,1 Gew.-Teilen eine ausreichende Enzymaktivität im fertigen Enzym-Vorgranulat sicherstellen. Zur Herstellung der Enzyme bzw. Enzymgemische kommen allgemein Bakterien, speziell aus der Gattung Pseudomonas oder Bacillus, oder Fungi, speziell aus der Gattung Aspergillus, Trichoderma, Rhizopus, Penicillium, Irpex zum Einsatz. Es ist auch möglich, gewünschtenfalls die Strukturgene der Enzyme in geeignete Stämme von Mikroorganismen zu klonieren und zu exprimieren. Hierzu ist an sich jeder Mikroorganismus geeignet, der die zu klonierende DNA für das Enzym plasmidisch (episomal) oder genomisch (chromosomal) aufnimmt und die entsprechenden Funktionen ausüben kann.

Das im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzte Enzym oder Enzymgemisch kann in Form eines Pulvers oder einer wäßrigen Lösung des Enzyms oder Enzymgemisches verwendet werden. Zweckmäßige Enzyme bzw. Enzymgemische sind hierbei Enzympräparate, wie sie üblicherweise bei der industriellen Herstellung anfallen. Solche Enzympräparate enthalten in der Regel nicht nur ein einziges Enzym oder ein Gemisch von Enzymen, sondern noch andere herstellungsbedingte Begleitstoffe in untergeordneten Mengen. Ein Beispiel für solche Begleitstoffe sind z.B. Salze, die zur Präzipitation des Enzyms aus der Mutterlauge, wie diese

nach Abtrennung der Biomasse aus einer Fermentationsbrühe erhalten wird, zugesetzt werden und bei der Präzipitation teilweise vom Enzym-Präzipitat eingeschlossen werden können. Die Enzyme oder Enzymgemische können ferner übliche Enzymstabilisatoren und übliche Stell- und Konservierungsmittel als weitere Begleitstoffe enthalten. Beispiele für solche Begleitstoffe sind Alkohole, Glykole, Glykolether, wie 1-Methyloxy-2-propanol, Isopropanol, Butyldiglykol, Natriumbenzoat, Calciumsalze, Glukose, Parabene, Kalium- und Natriumsorbat, Kochsalz. Werden wäßrige Lösungen des Enzyms oder Enzymgemisches eingesetzt, so können diese durch nachträgliches Lösen von Enzym- bzw. Enzymgemisch-Pulvern zubereitet werden; oder es können in einer anderen Variante auch direkt die Mutterlaugen, wie diese nach Abtrennung der Biomasse aus der Fermentationslösung anfallen, gegebenenfalls nach Aufkonzentrierung oder Verdünnung verwendet werden. Auch solche wäßrigen Lösungen der Enzyme bzw. Enzymgemische enthalten in der Regel noch einen geringen Anteil herstellungsbedingter Begleitstoffe neben der eigentlichen Enzymaktivität bzw. neben den verschiedenen Enzymaktivitäten bei Enzymgemischen. Enzymgemische können einerseits direkt durch Fermentation erhalten werden, wobei dann die jeweils üblicherweise durch den eingesetzten Mikroorganismus gebildeten Enzyme in natürlichen Mengenverhältnissen miteinander vermischt vorliegen. Enzymgemische können andererseits jedoch auch durch einfaches Mischen von handelsüblichen Einzelenzymen hergestellt werden.

Als Granulierhilfsstoffe können im erfindungsgemäßen Verfahren enzymverträgliche und ernährungsphysiolgisch unbedenkliche Bindemittel, Füllstoffe und/oder organische Lösungsmittel eingesetzt werden. Zweckmäßige Bindemittel sind insbesondere abgebaute lösliche Stärke und/oder Weizenkleber.

In einer besonderen Ausführungsart des erfindungsgemäßen Verfahrens werden die in pulvriger Form vorgemischt vorliegenden Bestandteile für das Enzym-Vorgranulat ("Vormischung") satzweise oder kontinuierlich dem Schnellmischer zugeführt und

dort ebenfalls satzweise oder kontinuierlich eine zur Einstellung des Feuchtegehaltes geeignete Menge Wasser oder eine wäßrige Lösung, ggf. mit darin gelösten Granulierhilfsstoffen (z.B. Bindemittel) und/oder darin gelöstem Enzym oder Enzymgemisch, zudosiert und dann das Enzym-Feuchtgranulat durch intensives Mischen gebildet und nach vorgegebener Verweildauer aus dem Schnellmischer entnommen bzw. kontinulierlich abgezogen.

Die Erfindung betrifft auch die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Enzym-Vorgranulate, die sich in besonderer Weise zur Einarbeitung in die Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates eignen. Solche erfindungsgemäßen Enzymgranulate sind insbesondere weiterhin dadurch gekennzeichnet, daß sie aus

0,08 bis 22 Gew.-% (Trockensubstanz) Enzym oder Enzymgemisch,
55 bis 96,92 Gew.-% (Trockensubstanz ohne Feuchte) einer Mehltype mit einem Ausmahlungsgrad von 30 % bis 100 %, wobei die Mehlytype durch Ausmahlen einer , gegebenenfalls zuvor gewaschenen und/oder gereinigten, mit trockenem Heißdampf behandelten Mehlquelle gewonnen wurde,

gegebenenfalls bis zu insgesamt 18,5 Gew.-% Granulierhilfsstoffe (als wasserfreie Substanz berechnet), und

3 bis 12 Gew.-% Feuchte bestehen,
wobei die Summe der Bestandteile aus Enzym oder Enzymgemisch, Mehl-Trockensubstanz Feuchte und gegebenenfalls Granulierhilfsstoff 100 Gew.-% beträgt.

Zweckmäßige erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulate bestehen aus

0,08 bis 11 Gew.-% (Trockensubstanz) Enzym oder Enzymgemisch,
66 bis 96,92 Gew.-% (Trockensubstanz ohne Feuchte) einer Mehltype mit einem Ausmahlungsgrad von 30 % bis 100 %, wobei die Mehlytype durch Ausmahlen mit trockenem Heißdampf behandelten

Mehlquelle gewonnen wurde,

gegebenenfalls bis zu insgesamt 14,5 Gew.-% Granulierhilfsstoffe (als wasserfreie Substanz berechnet),

3 bis 12 Gew.-% Feuchte, wobei die Summe der Bestandteile aus Enzym oder Enzymgemisch, Mehl-Trockensubstanz Feuchte und gegebenenfalls Granulierhilfsstoff 100 Gew.-% beträgt.

Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulate bestehen aus

1,9 bis 7,8 Gew.-% (Trockensubstanz) Enzym oder Enzymgemisch, 76 bis 94,6 Gew.-% (Trockensubstanz ohne Feuchte) einer Mehltype mit einem Ausmahlungsgrad von 30 % bis 100 %, wobei die Mehlytype durch Ausmahlen mit trockenem Heißdampf behandelten Mehlquelle gewonnen wurde,

insgesamt 0,5 bis 5,4 Gew.-% Granulierhilfsstoffe (als wasserfreie Substanz berechnet),

3 bis 12 Gew.-% Feuchte, wobei die Summe der Bestandteile aus Enzym oder Enzymgemisch, Mehl-Trockensubstanz Feuchte und gegebenenfalls Granulierhilfsstoff 100 Gew.-% beträgt.

Durch das erfindungsgemäße Verfahren werden vorteilhafte, aktivitätsstabile Enzym-Vorgranulate zur Einarbeitung in die Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates bereitgestellt. Das derart bereitgestellte erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulat weist im Hinblick auf die Weiterverarbeitung, d.h. im Hinblick auf die Einarbeitung in die Teilchen des Tierfuttermittel-Granulates verschiedene Vorteile auf. Zum einen weist das erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulat eine außergewöhnliche Thermostabilität, Druckstabilität und Friktionsstabilität auf. Dadurch gelingt es, das Enzym-Vorgranulat in die Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates im Rahmen üblicher Extrusionsverfahren einzuarbeiten, ohne daß bei den Schritten der Konditionierung

(Bedüsen mit heißem Dampf) und nachfolgender Extrusion (Druck- und Friktionsbeanspruchung) zur Herstellung von Strangschnittlingen wesentliche Aktivitätsverluste auftreten. Durch das erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulat werden die Enzyme daher in einer Form zur Verfügung gestellt, die es ihnen ermöglicht, die hohe Beanspruchung in den Verfahrensschritten Konditionierung und Extrusion bei der Tierfuttermittel-Granulat-Herstellung zu überstehen. Die Erfindung betrifft daher weiterhin die Verwendung der erfindungsgemäß hergestellten Enzymvorgranulate zur Herstellung von Tierfuttermittel-Granulaten, insbesondere zur Herstellung von solchen Tierfuttermittel-Granulaten, bei denen das Enzym möglichst homogen und geschützt gegen Inaktivierung durch Extrusionsverfahren in die Teilchen des Tierfuttermittel-Granulates (d.h. sogenannte Tierfuttermittel-"Pellets") eingearbeitet werden sollen.

Neben der guten Belastbarkeit bei der Herstellung von Tierfuttermittel-Granulaten (Thermo-, Druck- und Friktionsstabilität) weist das erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulat eine Reihe weiterer günstiger Eigenschaften auf. So zeigen die erfindungsgemäßen Enzym-Vorgranulate eine hervorragende Lagerstabilität und weisen insbesondere eine allenfalls vernachlässigbare, außerordentlich geringe Keimbelastung auf. Sie sind freifließend und zeigen daher eine gute Riesel- und Dosierfähigkeit. Darüber hinaus weisen sie nach den in der Futtermittelindustrie üblichern Testverfahren keine Verbackungsneigung auf. Im Hinblick auf die in der Futtermittelindustrie üblichen Testverfahren zur Staubbestimmung wird auch keine Neigung zur Staubbildung beobachtet. Das erfindungsgemäße Enzym-Vorgranulat besitzt weiterhin eine vorteilhafte Korngrößeneinstellung, wodurch insbesondere auch eine günstige Einmischbarkeit und Einarbeitbarkeit in die Rezepturbestandteile von Tierfuttermittel-Granulaten gewährleistet wird; die erfindungsgemäßen Enzym-Vorgranulat-Teilchen zeigen dabei keine Neigung zur Entmischung und können daher gut im Extrusionsverfahren mit den Futtermittelbestandteilen gemischt und gut im Futtermittel-Granulat eingearbeitet (dispergiert) werden.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die vorstehende Erfindung näher erläutern, ohne diese jedoch in ihrem Umfange einzuschränken.

Beispiel 1

Mehlgewinnung (Heißdampfbehandlung und Ausmahlen)

Die Heißdampfbehandlung der Mehlquellen (ganze Getreidekörner oder Leguminosenfrüchte) erfolgte in einer Entkeimungsanlage mit folgendem Aufbau:

- dampfbeheizte Vorwärmschnecke, Temperatur ca 40 bis 50 °C;
- wärmeisolierter und kontinuierlich arbeitender Bedämpfer (vertikal stehender konischer Zylinder mit Höhe 5 m; Durchmesser oben ca. 40 cm, unten ca. 60 cm; Temperatur ca. 100 bis 110 °C);
- drei Dampf-Ringdüsen im oberen Bereich des Bedämpfers und im unteren Bereich drei vertikal angeordnete Dampflanzen;
- dampfbeheizte Austragsschnecke;
- ein nachgeschalteter Fließbett-Trockner und ein sich daran anschließender Fließbett-Kühler.

Die Getreide- oder Leguminosenkörner wurden kontinuierlich mittels der dampfbeheizten Vorwärmschnecke in den konischen Bedämpfer gefördert. Dort erfolgte über die drei Ringdüsen und drei Dampflanzen die Beaufschlagung mit trockenem Heißdampf (von 8 bar auf 0,8 bar Überdruck reduziert). Die Guttemperatur im Bedämpfer betrug ca. 100 °C, die Verweilzeit ca. 40 Minuten. Der Austrag der behandelten Getreide- oder Leguminosenkörner erfolgte über eine dampfbeheizte Schnecke, durch die das behandelte Gut zur Entfernung von Dampf und gegebenenfalls bei der Behandlung gebildeten Kondensates in einen Fließbett-Trockner überführt wurde. Nach Abkühlung in einem sich anschließenden Kühlfließbett erfolgte die Vermahlung der behandelten Getreide- oder Leguminosenkörner in an sich klassischer Weise bis zum gewünschten Ausmahlungsgrad.

Die nach Heißdampf-Behandlung erhaltenen Mehle wiesen folgende durchschnittliche Eigenschaften auf:
Feuchtigkeit ca. 10 bis 15 Gew.-% (+/- 2 Gew.-%);
Gesamtkeimzahl unter 100/g;
25 g Proben waren in Bezug auf E.Coli, Salmonella, Pseudomonas aeruginosa negativ; ebenso konnte Hefe und Schimmel nicht nachgewiesen werden.

Die erfindungsgemäß heißdampfbehandelten Mehle wiesen somit eine hervorragende mikrobiologische Reinheit auf. Diese hohe mikrobilogische Reinheit wurde auch bei hohen Ausmahlungsgraden (hoher Schalenanteil im Mehl) eingehalten. Die erfindungsgemäß behandelten Mehle eigneten sich hervorragend für die nachfolgende Granulierung von Futtermittelenzymen unter milden Bedingungen insbesondere unter Bedingungen ohne thermische Behandlung bzw. thermische Keimzahlreduzierung.

Beispiel 2
Herstellung erfindungsgemäßer Enzym-Vorgranulate

Zur Herstellung erfindungsgemäßer Enzym-Vorgranulate für die Einarbeitung in Futtermittel-Granulate wurden Enzympräprate und gemäß Beispiel 1 erhaltene Getreide- und/oder Leguminosenmehle durch Agglomeration einer puverförmigen Ausgangsmischung unter Zusatz von Granulierflüssigkeit hergestellt. Die pulverförmige Ausgangsmischung aus Enzympräparat und Getreide- bzw. Leguminosenmehl wurde in einem kontinuierlich arbeitenden Schnellmischer/Agglomerator vom Typ Flexomix (der Firma Schugi) unter Einsprühen der Granulierflüssigkeit intensiv durchmischt und das entstandene Granulat anschließend in einem kontinuierlichen Fließbett-Trockner getrocknet. Unterkorn (< 100 µm) wurde im Fließbett-Trockner ausgeblasen (Windsichtung), Überkorn (> 800 µm) wurde abgesiebt und gemahlen. Das Fehlkorn wurde vollständig in das Granulierverfahren recycliert.

Als Enzympräparat wurden jeweils ein handelsübliches Pentosanase-Präparat und Cellulase-Präparat eingesetzt. Bei beiden Enzym-Präparaten handelt es sich um sogenannte Enzymkonzentrat-Pulver.

| Enzym* | Pentosanase-Präparat/ Aktivität** | Cellulase-Präparat/ Aktivität** |
|---|---|---|
| **Pentosanase** | **1.030.000 EU/g (Leitaktivität)** | 160.000 EU/g |
| beta-Glucanase | 350 EU/g | 720 EU/g |
| alfa-Amylase | 8.800 EU/g | 107.000 EU/g |
| Galactomannanase | 4.300 EU/g | 13.300 EU/g |
| **Cellulase** | 16.000 EU/g | **30.900 EU/g (Leitaktivität)** |

* = "natürliche", d.h. aus dem Herstellungsprozeß stammende, Haupt- und Begleitenzyme

** = Enzymaktivitätseinheiten nach festgelegten Standard-Bestimmungsmethoden

Als Mehl wurde in diesem Beispiel Weizenvollkornmehl mit einem Ausmahlungsgrad von 100 % eingesetzt. Die Spezifikation der Korngrößenverteilung des eingesetzten Weizenvollkornmehls (Messung mittels Labor-Luftstrahlsieb Alpine A 200 LS) war wie folgt (durchschnittliche Werte):

| Korngröße Bereich | Gew.-%-Anteil (Spezifikation) |
|---|---|
| ≥ 300 µm | ca. 4 |
| < 300 bis ≥ 250 µm | ca. 10 |
| < 250 bis ≥ 200 µm | ca. 10 |
| < 200 bis ≥ 150 µm | ca. 15 |
| < 150 bis ≥ 100 µm | ca. 15 |
| < 100 bis ≥ 50 µm | ca. 20 |
| < 50 µm | ca. 26 |

Für die Granulation erweist es sich als vorteilhaft, wenn der Feinanteil (< 50 µm) des eingesetzten Mehles möglichst gering (z.B. insbesondere unter 30 Gew.-%) gehalten wird.

Die im Granulationsverfahren eingesetzte pulverförmige Ausgangsmischung aus Enzympräparat und Mehl bestand aus 95 Gewichtsanteilen Weizenvollkornmehl als Träger und 5 Gewichtsanteilen Enzymkonzentratpulver. Die pulverförmige Ausgangsmischung wurde mit einer wäßrigen Sprühlösung, enthaltend 4 Gew.-% gelöste modifizierte Stärke, agglomeriert. Weitere beispielhafte Verfahrensbedingungen ergeben sich aus Tabelle I, die Produkteigenschaften der dabei erfindungsgemäß erhaltenen Enzym-Vorgranulate für die Einarbeitung in Tierfuttermittel-Granulate ergeben sich aus Tabelle II.

Es wurden unter minimalen Massenverlusten (< 3 Gew.-%) Enzym-Vorgranulate mit hervorragender mikrobiologischer Qualität spezifikationsgerecht hinsichtlich Korngrößenverteilung und Aktivität mit sehr guten technologischen Granulateigenschaften hergestellt.

Tabelle I: Verfahrensbedingungen zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Enzym-Vorgranulates

| | Pentosanase Vorgranulat | | Cellulase Vorgranulat | |
|---|---|---|---|---|
| | Massenstrom kg/h | Feuchte Gew.-% | Massenstrom kg/h | Feuchte Gew.-% |
| Bandwaage vor Schugimischer | 550 | 13,1 | 550 | 13,1 |
| 4% Stärkelösung | 125 | 96,0 | 115 | 96,0 |
| Auslauf Schugimischer | 675 | 29,1 | 665 | 26,3 |
| Recyclat Unterkorn (Fließbett-Trockner) | 118 | 11,6 | 92 | 10,6 |
| Endprodukt | 403 | 7,9 | 443 | 7,6 |
| Massenausbeute (feuchtekorrigiert) | 98 Gew.-% | | 97 Gew.-% | |
| Produkttemperatur im Fließbett-Trockner | | | | |
| Segment 1 | 50 °C | | 52 °C | |
| Segment 2 | 48 °C | | 50 °C | |
| Segment 3 | 53 °C | | 52 °C | |
| Segment 4 | 55 °C | | 56 °C | |
| Drehzahl Flexomix | 3378 rpm* | | 3484 rpm* | |

*rpm = Umdrehung pro Minute (=UpM)

Tabelle II: Produkteigenschaften erfindungsgemäßer Enzymvorgranulate

| | Pentosanase Vorgranulat | Cellulase Vorgranulat |
|---|---|---|
| Aktivität | 3160 EPU/g[1] | 1264 CU/g[2] |
| Schüttdichte | 532 g/l | 500 g/l |
| Staubzahl | 0 * | 0 * |
| Fließfaktor | 28 * | 56 * |
| Verbackungstest (Caking) | 0 * | 0 * |
| Korngrößenverteilung Endprodukt | | |
| > 800 µm (Überkorn) | 0 % | 0 % |
| > 500 - 800 µm | 26 % | 21 % |
| > 250 - 500 µm | 52 % | 57 % |
| 100 - 250 µm | 21 % | 22 % |
| < 100 µm (Unterkorn) | 0,2% | 0,1 % |
| Keimzahlen Endprodukt | | |
| Gesamtkeimzahl | 2000 /g | 1700 /g |
| Coliforme | < 30 /g | < 30 /g |
| E.coli | neg. in 25 g | neg. in 25 g |
| Salmonellen | neg. in 25 g | neg. in 25 g |
| Pseudomonas aeruginosa | neg. in 25 g | neg. in 25 g |
| Hefe | < 200 /g | < 200 /g |
| Schimmel | < 200 /g | < 200 /g |

* Kriterien bzgl. technologischer Granuliereigenschaften (Messung nach Standard-Methoden):

Staubzahl 0-2: staubfrei — Fließfaktor >10: frei fließend — Verbackungstest <5: geringe Verbackungsneigung

[1] EPU = Aktivität, die eine relative Fluiditätsänderung von 1 in einer Minute in einem definierten Haferschalendextran ergibt.

[2] CU = Aktivität, die eine relative Fluiditätsänderung von 1 in 5 Minuten in einem Carboxymethylcellulose-Substrat ergibt.

Beispiel 3

Einarbeitung des Enzym-Vorgranulates in Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates (Tierfuttermittel-Pellets)

Die im Beispiel 2 erfindungsgemäß hergestellten Enzym-Vorgranulate wurden in einer Granulieranlage ("Pelletier"-Anlage) anwendungsnah in eine Futtermittelvormischung eingemischt, thermisch konditioniert und anschließend im Extrusionsverfahren granuliert ("pelletiert").

Die eingesetzte, typische Anlage zur Mischfutterpelletierung umfaßte einen Vormischer zur Mischung der festen Komponenten, einem Dosierbehälter, einen Kurzzeitkonditioneur zur Einstellung von ca. 3 % Sattdampf (Produkttemperatur 60 bis 70 °C), eine Pelletierpresse (Produkttemperatur 65 bis 80 °C) und ein Abkühlsieb.

Die Zusammensetzung der Futtermittel-Vormischungen, in die die erfindungsgemäßen Enzym-Vorgranulate (mit Pentosanase oder Cellulase) eingearbeitet wurden, ist in Tabelle III angegeben. Die Meß- und Analysendaten der Pelletierversuche mit der gegebenen Futtermittel-Vormischung und erfindungsgemäßem Vorgranulat sind in Tabelle IV wiedergegeben. Bei dem angegebenen Temperaturprofil mit einem Maximum von 73 °C bei Pentosanase-Vorgranulat und 81 °C bei Cellulase-Vorgranulat erkennt man sehr hohe Restaktivitäten nach Pelletierung, nämlich von 91% bzw. 94% der eingesetzten Enzymaktivität; derartige hohe Enzymaktivitäten werden bei Einsatz von Enzymen gemäß Stand der Technik nicht erhalten (siehe Ergebnisse von Vergleichsversuchen für Enzym-Präparate gemäß Stand der Technik in Tabelle IV).

Tabelle III: Futtermittelvormischungen für Granulier- bzw. Pelletierversuche mit erfindungsgemäßen Enzym-Vorgranulaten

| Futtermittel-Komponenten | für Futtermittel-Granulate mit | |
|---|---|---|
| | Pentosanase | Cellulase |
| Weizen | 37,1 Gew.-% | 24,8 Gew.-% |
| Gerste | - | 33,6 Gew.-% |
| Mais | 18,9 Gew.-% | - |
| Sojaschrot 44% | 14,5 Gew.-% | 13,4 Gew.-% |
| Erbsen | 12,6 Gew.-% | 13,2 Gew.-% |
| Tiermehl 55 | 8,4 Gew.-% | 9,1 Gew.-% |
| Tierfett | 3,2 Gew.-% | - |
| Ackerbohnen | 3,1 Gew.-% | 3,5 Gew.-% |
| Fleischknochenmehl | 2,2 Gew.-% | 2,4 Gew.-% |

| Inhaltsstoffe | für Futtermittel-Granulate mit | |
|---|---|---|
| | Pentosanase | Cellulase |
| Feuchtigkeit | 11,4 Gew.-% | 11,8 Gew.-% |
| Rohfett | 5,5 Gew.-% | 2,9 Gew.-% |
| Rohfaser | 3,7 Gew.-% | 5,8 Gew.-% |
| Rohprotein | 19,8 Gew.-% | 21,2 Gew.-% |
| Rohstärke | 41,4 Gew.-% | 37,8 Gew.-% |
| Rohasche | 6,6 Gew.-% | 6,0 Gew.-% |

| Physikalische Eingenschaften | für Futtermittel-Granulate mit | |
|---|---|---|
| | Pentosanase | Cellulase |
| Dichte | 1,34 g/cm³ | 1,38 g/cm³ |
| Schüttdichte | 0,69 g/cm³ | 0,64 g/cm³ |
| Rütteldichte | 0,74 g/cm³ | 0,60 g/cm³ |
| Schüttwinkel | 39,0 ° | 42,0 ° |
| Partikelgröße $x_{50}$ | 0,71 mm | 0,58 mm |

Tabelle IV: Meß- und Analysendaten der Pelletierversuche mit Pentosanase bzw. Cellulase (jeweils als erfindungsgemäßes Enzym-Vorgranulat) und Enzymen des Standes der Technik

| | T | Feuchte | Aktivität | relative Aktivität | T | Feuchte | Aktivität | relative Aktivität |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | °C | Gew-% | EPU/kg* | % | °C | Gew.-% | EPU/kg* | % |
| | Futtermittel-Granulat mit | | | | | | | |
| erfindungsgemäß | Pentosanase | | | | Cellulase | | | |
| vor Kurzzeitkonditioneur | 17 | 11,4 | 1790 | 100 | 20 | 12,3 | 476 | 100 |
| nach Kurzzeitkondioneur | 65 | 14,4 | 1678 | 93,7 | 70 | 15,4 | 510 | 107 |
| nach Presse | 73 | 14,8 | -- | -- | 81 | 15,2 | -- | -- |
| nach Kühler | 17 | 12,5 | 1621 | 90,6 | 21 | 12,7 | 448 | 94 |
| | Futtermittel-Granulat mit | | | | | | | |
| Vergleichsversuche | Pentosanase (gemäß Stand der Technik) | | | | Cellulase (gemäß Stand der Technik) | | | |
| vor Kurzzeitkondioneur | 17 | 11,4 | 2242 | 100 | 20 | 12,3 | 495 | 100 |
| nach Kurzzeitkonditioneur | 65 | 14,4 | 1561 | 69 | 71 | 15,4 | 475 | 96 |
| nach Presse | 73 | 14,8 | -- | -- | 81 | 15,2 | -- | -- |
| nach Kühler | 17 | 12,5 | 1685 | 77 | 20 | 12,7 | 285 | 58 |

* EPU = Aktivität, die eine relative Fluiditätsänderung von 1 in einer Minute in einem definierten Haferschalendextran ergibt.

Beispiel 5

Thermische Stabilität erfindungsgemäßer Enzym-Vorgranulate in einer Tierfuttermittel-Matrix (Modellversuch)

Zum Nachweis der hohen thermischen Stabilität der erfindungsgemäß hergestellten Enzym-Vorgranulate wurde in einem Modellsystem die thermische Stabilität eines erfindungsgemäßen Enzym-Vorgranulates in einer Matrix aus verschiedenen Tierfuttermitteln überprüft. Hierzu wurde ein erfindungsgemäßes Cellulase- bzw. Pentosanase-Vorgranulat mit Tierfuttermittel für Geflügel (übliche Bestandteile) vermischt. Das Enzym wurde in einer Menge von 5 Gew.-% in die Futtermittel-Mischung eingebracht.

Die Messung wurde wie folgt vorgenommen:
Glasröhrchen (10x1 cm) wurden mit 5 g der Futtermittel-Mischung befüllt und anschließend in einem thermostatiertem Wasserbad jeweils für eine bestimmte Zeit bei einer bestimmten Temperatur gehalten. Nach der Temperaturbehandlung wurde das Röhrchen sofort in einem Eiswasserbad abgekühlt. Die restliche Cellulaseaktivität wurde durch eine kolorimetrische Methode bestimmt, unter Verwendung eines Referenz-Aktivitäts-Standards. Dieser Test basierte auf der enzymatischen Hydrolyse der inneren Beta-1,4-glykosidischen Bindungen einer definierten Azurin-kreuzvernetzten Cellulose. Die wiedergefundene Aktivität in % der ursprünglich eingesetzten Aktivität ist in Tabelle V für die überprüften Enzyme Pentosanase (Tabelle Va) und Cellulase (Tabelle Vb) wiedergegeben. Hierbei erweist sich Cellulase nach einer Behandlung von über einer Stunde bei Temperaturen unterhalb 80 °C mit wiedergefundenen Aktivitäten über 95 % als sehr stabil in der Futtermittel-Mischung. Auch Pentosanase erweist sich bei Temperaturen von 83 °C und einer Testdauer von 60 Minuten mit 83 % Restaktivität als sehr temperaturstabil in der Futtermittel-Mischung. Bei sehr kurzen Zeiträumen, z.B. 5 Minuten, werden noch höhere Restaktivitäten wiedergefunden (z.B. nahezu 100 % bei 95 °C, 5 Minuten).

Vergleichbare Enzymzubereitungen des Standes der Technik erweisen sich in den Futtermittel-Zusammensetzungen als wesentlich temperaturempfindlicher.

Tabelle Va: Temperaturstabilität erfindungsgemäßer Enzym-Vorgranulate in Futtermittel-Matrix: Pentosanase als Enzym

| Versuch Nr. | Zeit [min] | Temperatur [°C] | Restaktivität [ % ] |
|---|---|---|---|
| 1.1 | 0 | 70 | 100 |
| 1.2 | 5 | 70 | 130 |
| 1.3 | 33 | 70 | 94 |
| 1.4 | 33 | 70 | 72 |
| 1.5 | 60 | 70 | 81 |
| 1.6 | 60 | 70 | 72 |
| 2.1 | 0 | 78 | 100 |
| 2.2 | 23 | 78 | 102 |
| 2.3 | 42 | 78 | 91 |
| 3.1 | 0 | 83 | 100 |
| 3.2 | 5 | 83 | 119 |
| 3.3 | 5 | 83 | 130 |
| 3.4 | 60 | 83 | 83 |
| 3.5 | 60 | 83 | 89 |
| 4.1 | 0 | 87 | 100 |
| 4.2 | 23 | 87 | 96 |
| 4.3 | 42 | 87 | 89 |
| 5.1 | 0 | 95 | 100 |
| 5.2 | 5 | 95 | 111 |
| 5.3 | 5 | 95 | 120 |
| 5.4 | 23 | 95 | 75 |
| 5.5 | 33 | 95 | 60 |
| 5.6 | 60 | 95 | 47 |

Tabelle Vb: Temperaturstabilität erfindungsgemäßer Enzym-Vorgranulate in Futtermittel-Matrix: Cellulase als Enzym

| Versuch Nr. | Zeit [min] | Temperatur [°C] | Restaktivität [ % ] |
|---|---|---|---|
| 1.1 | 0 | 70 | 100 |
| 1.2 | 5 | 70 | 110 |
| 1.3 | 33 | 70 | 98 |
| 1.4 | 33 | 70 | 98 |
| 1.5 | 60 | 70 | 94 |
| 1.6 | 60 | 70 | 103 |
| 2.1 | 0 | 78 | 100 |
| 2.2 | 23 | 78 | 97 |
| 2.3 | 42 | 78 | 93 |
| 3.1 | 0 | 83 | 100 |
| 3.2 | 5 | 83 | 102 |
| 3.3 | 5 | 83 | 105 |
| 3.4 | 60 | 83 | 91 |
| 3.5 | 60 | 83 | 86 |
| 4.1 | 0 | 87 | 100 |
| 4.2 | 23 | 87 | 88 |
| 4.3 | 42 | 87 | 87 |
| 5.1 | 0 | 95.5 | 100 |
| 5.2 | 5 | 95.5 | 96 |
| 5.3 | 5 | 95.5 | 99 |
| 5.4 | 23 | 95.5 | 91 |
| 5.5 | 33 | 95.5 | 71 |
| 5.6 | 60 | 95.5 | 65 |

Soweit in der vorliegenden Anmeldung auf Enzymaktivitäten Bezug genommen wird, erfolgte die Aktivitätsbestimmung für das jeweilige Enzym nach an sich üblichen, dem Fachmann geläufigen Standardmethoden.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung eines aktivitätsstabilen Enzym-Vorgranulates zur Einarbeitung in Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates, dadurch gekennzeichnet, daß man zunächst ein Feuchtgranulat herstellt, indem man

0,01 bis 20 Gew.-Teile Enzym oder Enzymgemisch (berechnet als Trockensubstanzgehalt des eingesetzten Enzympräparates),
80 bis 99,99 Gew.-Teile (inklusive Feuchtegehalt) einer organischen Mehltype mit einem Ausmahlungsgrad von 30 % bis 100 %,
wobei die Mehltype durch Ausmahlen einer mit trockenem Heißdampf behandelten Mehlquelle gewonnen wurde,
und wobei sich die Gew.-Teile des Enzyms oder Enzymgemisches und der Mehltype auf 100 Gew.-Teile summieren,

gewünschtenfalls bis zu insgesamt 20 Gew.-Teile Granulierhilfsstoffe (berechnet als wasserfreie Granulierhilfsstoffe),

unter Verwendung einer berechneten Menge Wasser, die zur Einstellung eines Feuchtegehaltes im Feuchtgranulat von 20 bis 50 Gew.-% (bezogen auf die Summe der Bestandteile des Feuchtgranulates als 100 Gew.-%) ausreicht,

in einem Schnellmischer durch intensives Mischen zu einem klebefreien Feuchtgranulat mit gewünschtem Korngrößenbereich aufbaut,

man das derart erhaltene Feuchtgranulat trocknet und nachfolgend gewünschtenfalls noch durch Siebung von Unter- und/oder Überkorn befreit.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Herstellung des Feuchtgranulates

0,01 bis 10 Gew.-Teile Enzym oder Enzymgemisch, vorzugsweise 2 bis 7 Gew.-Teile Enzym oder Enzymgemisch,
90 bis 99,99 Gew.-Teile Mehltype, vorzugsweise 93 bis 98 Gew.-Teile Mehltype,

gewünschtenfalls bis zu insgesamt 15 Gew.-Teile, vorzugsweise 0,5 bis 5 Gew.-Teile, Granulierhilfsstoffe,

und eine berechnete Menge Wasser einsetzt, die zur Einstellung eines Feuchtegehaltes von 25 bis 40 Gew.-%, vorzugsweise von 25 bis 35 Gew.-% ausreicht.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Ausmahlungsgrad der Mehltype 50 % bis 100 %, vorzugsweise 70 % bis 100 % beträgt.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zur Gewinnung der Mehltype als Mehlquelle Getreidekörner, Leguminosenfrüchte und/oder Früchte der Familie Malvaceae eingesetzt werden.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung der Mehlquelle mit trockenem Heißdampf mit einer Temperatur von insbesondere 100 bis etwa 110 °C unter annähernd Normaldruck bis leichtem Überdruck und einer Behandlungsdauer von bis zu etwa 1 Stunde durchgeführt wurde.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Feuchtgranulat mit einem Korngrößenbereich von 100 bis 800 µm, vorzugsweise von 100 bis 500 µm, aufbaut.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Enzym oder Enzymgemisch in Form eines Pulvers oder einer wäßrigen Lösung des Enzyms oder Enzymgemisches eingesetzt wird.

8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Enzym oder Enzymgemisch eine Hydrolase, vorzugsweise aus der Gruppe der Carbohydrasen, Proteasen, Lipasen und Esterasen, oder eine Oxinitrilase, Tannase, Chitinase, Keratinase, Oxidase oder ein Gemisch dieser Enzyme ist.

9. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß ein Enzym mit Nebenaktivitäten oder ein Enzymgemisch eingesetzt wird.

10. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Carbohydrasen ausgewählt sind aus β-Glucanasen, Cellulasen, Amylasen, Pentosanasen, Pectinasen, Xylanasen, Arabanasen, Hemicellulasen, Galactomannanasen, Polygalacturonasen, Phytasen, Glucoamylasen, α-Galactosidasen, Pullulanasen, Driselase®.

11. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Oxidase eine Glucoseoxidase oder Peroxidase ist.

12. Verfahren nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Enzym Lysozym oder Muramidase ist.

13. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Granulierhilfsstoffe enzym- und ernährungsphysiolgisch verträgliche Bindemittel, Füllstoffe und/oder organische Lösungsmittel (natürlichen Ursprungs) eingesetzt werden.

14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß als Bindemittel abgebaute lösliche Stärke und/oder Weizenkleber eingesetzt wird.

15. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man die in pulvriger Form vorgemischt vorliegenden Bestandteile für das Enzym-Vorgranulat satzweise oder kontinuierlich in den Schnellmischer zuführt und dort ebenfalls satzweise oder kontinuierlich eine zur Einstellung des Feuchtegehaltes geeignete Menge Wasser oder eine wäßrige Lösung, gegebenenfalls mit darin

gelösten Granulierhilfsstoffen oder darin gelöstem Enzym oder Enzymgemisch, zudosiert und man nach vorgegebener Verweildauer das Enzym-Feuchtgranulat aus dem Schnellmischer entnimmt oder kontinuierlich abzieht.

16. Aktivitätsstabiles Enzym-Vorgranulat zur Einarbeitung in Teilchen eines Tierfuttermittel-Granulates, dadurch gekennzeichnet, daß das Enzym-Vorgranulat nach einem Verfahren der Ansprüche 1 bis 15 erhältlich ist.

17. Enzymgranulat nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß es aus

0,08 bis 22 Gew.-% (Trockensubstanz) Enzym oder Enzymgemisch,
55 bis 96,92 Gew.-% (Trockensubstanz) einer Mehltype mit einem Ausmahlungsgrad von 30 % bis 100 %, wobei die Mehlytype durch Ausmahlen einer mit trockenem Heißdampf behandelten Mehlquelle gewonnen wurde,

gegebenenfalls bis zu insgesamt 18,5 Gew.-% Granulierhilfsstoffen (als wasserfreie Substanz berechnet),

3 bis 12 Gew.-% Feuchte besteht, wobei die Summe der Bestandteile 100 Gew.-% beträgt.

18. Verwendung von Enzym-Vorgranulaten, gemäß einer der Ansprüche 16 oder 17 zur Herstellung von Tierfuttermittel-Granulaten, vorzugsweise derart, daß die Enzym-Vorgranulate in übliche Tierfuttermittelbestandteile eingemischt und diese Mischung durch Extrusion zu einem homogenen Tierfuttermittel-Granulat verarbeitet wird.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 97/02306

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A23K1/00 C12N9/98

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A23K C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| E | WO 97 16076 A (NOVONORDISK AS ;GIBSON KEITH (DK); JENSEN POUL ERIK (DK); LEVRING) 9 May 1997<br>see page 9, line 10 - line 21<br>see page 9, line 31 - page 10, line 32<br>see claims 1-4,8,11-16 | 1,4, 7-10,13, 14,16,18 |
| A | WO 92 12645 A (NOVONORDISK AS) 6 August 1992<br>see page 2, line 14 - line 22<br>see page 4, line 5 - line 9<br>see example 1<br>see claims 1,5 | 1,8-10, 13,14, 16,18 |
| A | EP 0 520 890 A (RHONE POULENC NUTRITION ANIMAL) 30 December 1992<br>see claims 1,7,11,12 | 1,16,18 |

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 2 September 1997 | 15.09.97 |

| Name and mailing address of the ISA | Authorized officer |
|---|---|
| European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. ( + 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax ( + 31-70) 340-3016 | Dekeirel, M |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 97/02306

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| A | WO 92 11347 A (HENKEL KGAA) 9 July 1992<br>see page 4, paragraph 3 - paragraph 4<br>see example 1<br>see claims 1-4,12,13 | 1 |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 012, no. 155 (C-494), 12 May 1988<br>& JP 62 269685 A (SHOWA DENKO KK), 24 November 1987,<br>see abstract | 1 |
| A | WO 95 18544 A (RHONE POULENC NUTRITION ANIMAL ;DIAT JEAN CLAUDE (FR); NICO PIERRE) 13 July 1995<br>see page 5, line 8 - line 15 | 1 |
| A | EP 0 516 867 A (NESTLE SA) 9 December 1992<br>see examples 1-5<br>see claim 1 | 1 |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 97/02306

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---|---|
| WO 9716076 A | 09-05-97 | AU 7489896 A | 22-05-97 |
| WO 9212645 A | 06-08-92 | AT 120616 T | 15-04-95 |
| | | DE 69201952 D | 11-05-95 |
| | | DE 69201952 T | 23-11-95 |
| | | EP 0569468 A | 18-11-93 |
| | | ES 2070634 T | 01-06-95 |
| | | JP 6504911 T | 09-06-94 |
| | | US 5391371 A | 21-02-95 |
| EP 0520890 A | 30-12-92 | FR 2678145 A | 31-12-92 |
| | | AT 146042 T | 15-12-96 |
| | | AU 654014 B | 20-10-94 |
| | | AU 1852492 A | 07-01-93 |
| | | CA 2072459 A | 29-12-92 |
| | | DE 69215770 D | 23-01-97 |
| | | DE 69215770 T | 10-04-97 |
| | | ES 2094315 T | 16-01-97 |
| | | JP 5184309 A | 27-07-93 |
| WO 9211347 A | 09-07-92 | DE 4041752 A | 25-06-92 |
| | | AT 121770 T | 15-05-95 |
| | | DE 59105338 D | 01-06-95 |
| | | EP 0564476 A | 13-10-93 |
| | | ES 2071478 T | 16-06-95 |
| WO 9518544 A | 13-07-95 | FR 2714575 A | 07-07-95 |
| | | AU 1510595 A | 01-08-95 |
| EP 0516867 A | 09-12-92 | DE 69101434 D | 21-04-94 |
| | | DE 69101434 T | 23-06-94 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 97/02306

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A23K1/00 C12N9/98

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A23K C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|---|---|---|
| E | WO 97 16076 A (NOVONORDISK AS ;GIBSON KEITH (DK); JENSEN POUL ERIK (DK); LEVRING) 9.Mai 1997<br>siehe Seite 9, Zeile 10 - Zeile 21<br>siehe Seite 9, Zeile 31 - Seite 10, Zeile 32<br>siehe Ansprüche 1-4,8,11-16<br>--- | 1,4, 7-10,13, 14,16,18 |
| A | WO 92 12645 A (NOVONORDISK AS) 6.August 1992<br>siehe Seite 2, Zeile 14 - Zeile 22<br>siehe Seite 4, Zeile 5 - Zeile 9<br>siehe Beispiel 1<br>siehe Ansprüche 1,5<br>---<br>-/-- | 1,8-10, 13,14, 16,18 |

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zumVerständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts |
|---|---|
| 2.September 1997 | 15. 09. 97 |

| Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde | Bevollmächtigter Bediensteter |
|---|---|
| Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,<br>Fax (+31-70) 340-3016 | Dekeirel, M |

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 97/02306

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|---|---|---|
| A | EP 0 520 890 A (RHONE POULENC NUTRITION ANIMAL) 30.Dezember 1992<br>siehe Ansprüche 1,7,11,12 | 1,16,18 |
| A | WO 92 11347 A (HENKEL KGAA) 9.Juli 1992<br>siehe Seite 4, Absatz 3 - Absatz 4<br>siehe Beispiel 1<br>siehe Ansprüche 1-4,12,13 | 1 |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN<br>vol. 012, no. 155 (C-494), 12.Mai 1988<br>& JP 62 269685 A (SHOWA DENKO KK),<br>24.November 1987,<br>siehe Zusammenfassung | 1 |
| A | WO 95 18544 A (RHONE POULENC NUTRITION ANIMAL ;DIAT JEAN CLAUDE (FR); NICO PIERRE) 13.Juli 1995<br>siehe Seite 5, Zeile 8 - Zeile 15 | 1 |
| A | EP 0 516 867 A (NESTLE SA) 9.Dezember 1992<br>siehe Beispiele 1-5<br>siehe Anspruch 1 | 1 |

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 97/02306

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|---|---|---|---|
| WO 9716076 A | 09-05-97 | AU 7489896 A | 22-05-97 |
| WO 9212645 A | 06-08-92 | AT 120616 T | 15-04-95 |
| | | DE 69201952 D | 11-05-95 |
| | | DE 69201952 T | 23-11-95 |
| | | EP 0569468 A | 18-11-93 |
| | | ES 2070634 T | 01-06-95 |
| | | JP 6504911 T | 09-06-94 |
| | | US 5391371 A | 21-02-95 |
| EP 0520890 A | 30-12-92 | FR 2678145 A | 31-12-92 |
| | | AT 146042 T | 15-12-96 |
| | | AU 654014 B | 20-10-94 |
| | | AU 1852492 A | 07-01-93 |
| | | CA 2072459 A | 29-12-92 |
| | | DE 69215770 D | 23-01-97 |
| | | DE 69215770 T | 10-04-97 |
| | | ES 2094315 T | 16-01-97 |
| | | JP 5184309 A | 27-07-93 |
| WO 9211347 A | 09-07-92 | DE 4041752 A | 25-06-92 |
| | | AT 121770 T | 15-05-95 |
| | | DE 59105338 D | 01-06-95 |
| | | EP 0564476 A | 13-10-93 |
| | | ES 2071478 T | 16-06-95 |
| WO 9518544 A | 13-07-95 | FR 2714575 A | 07-07-95 |
| | | AU 1510595 A | 01-08-95 |
| EP 0516867 A | 09-12-92 | DE 69101434 D | 21-04-94 |
| | | DE 69101434 T | 23-06-94 |